抗菌肽与革兰氏阳性菌的互作及其机制[1]

魏　媛[1]　龚国利[1,2*]

（1.陕西科技大学食品与生物工程学院，西安　710021；2.西安市微生物药物工程实验室，西安 710021）

摘　要：抗菌肽（AMP）因其具有理化性质稳定、抗菌谱广、耐高温以及不易使靶菌株产生耐药性等特点，作为一种新型的抗菌剂被提出，有望成为饲料抗生素的理想替代品，具有广阔的应用前景。但是随着对 AMP 的深入研究，发现部分细菌能对 AMP 产生耐药性。目前，还没有对 AMP 对革兰氏阳性（G^+）菌芽孢的抗性机制进行深入的研究。AMP 对 G^+菌的抑菌机制还知之甚少。在本文中，我们对 AMP 对 G^+菌的作用靶点、抑菌机制以及 G^+菌对 AMP 产生的耐药性等方面进行了综述。

关键词：抗菌肽；革兰氏阳性菌；枯草芽孢杆菌；金黄色葡萄球菌；抑菌机制；耐药性机制

中图分类号：S811.3　　　　　　　文献标识码：　　　　　　　　　　文章编号：

目前，大多数抗生素是 20 世纪 40—60 年代之间发现的[1]。近些年来，抗生素滥用现象日益严重，越来越多的细菌发展成对传统抗生素耐药性菌株。抗菌肽（AMP）是一类广泛存在于自然界生物体中的小分子多肽类物质，是机体先天性免疫的重要组成部分[2]。AMP 因其稳定的理化性质、广谱的抗菌性以及对靶菌株不易产生耐药性等特点，且具有与抗生素不同的靶点和作用机制，对抗生素耐药菌也有很好的抑菌效果，有望成为抗生素的理想替代品，受到了广泛的关注。AMP 按其结构可分为 α-螺旋、β-折叠、环链状和伸展性结构等[3]。尽管 AMP 在序列和结构上表现出多样性，但是它们有共同的特性：阳离子性、疏水性以及

收稿日期：2017-02-01

作者简介：魏　媛（1994—），女，河南新乡人，硕士研究生，从事微生物工程研究。E-mail: 1057543933@qq.com

*通信作者：龚国利，教授，硕士生导师，E-mail: 15029027717@126.com

两亲性[4]。当 AMP 与靶微生物脂质膜表面相互接触时，可以造成膜损伤；也可以不引起膜损伤穿过靶膜进入到细菌细胞内部发挥作用，例如，AMP 可以进入细胞内部影响 DNA、RNA 或蛋白质的生物合成[5-6]。

许多研究者利用脂质体为模型模拟细菌细胞膜，以确定 AMP 的作用机制。但人工脂质膜与细菌细胞膜在组成以及结构上都存在差异，且细胞生长的环境条件和试验条件也不相同，所以这些模型并不能完全解释 AMP 与细菌细胞膜的相互作用模式以及细菌对 AMP 产生的抗性的原因。随着对 AMP 研究的深入，发现越来越多的细菌能对 AMP 产生抗药性。本文以枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）为革兰氏阳性（G^+）菌的模式生物，以由金黄色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）和其孢子形成的艰难梭状芽胞杆菌（*Clostridium difficile*）为病原菌，对 AMP 对 G^+菌的作用靶点和抗性机制以及 G^+菌对 AMP 产生的抗药性进行阐述。

1　AMP 对 G^+菌的作用机制

1.1　AMP 与 G^+菌细胞壁的相互作用

G^+菌的细胞壁主要由肽聚糖和磷壁酸组成。枯草芽孢杆菌的细胞壁结构是动态的，在细胞膜细胞生长和分裂过程中不断进行合成和水解[7]。由于细胞壁中阴离子基团（肽聚糖中的羧基和磷壁酸的羧基和磷酸基团）的存在，枯草芽孢杆菌细胞表面呈阴离子性，因此阳离子型 AMP 首先与细菌通过静电引力相互作用。磷壁酸及其衍生物在与阳离子 AMP 作用时起着重要的作用。例如，金黄色葡萄球菌中介导磷壁酸 *D*-丙氨酸酯添加的 *dlt* 操纵子的缺失导致 AMP 对细菌的抵抗效力降低[8]。

1.1.1　AMP 抑制 G^+菌细胞壁的合成

AMP 可以与细胞壁合成前体分子脂质 II 结合，从而使细胞壁的生物合成受到抑制。细胞壁的生物合成过程如下：首先在细胞质中通过一系列的反应形成尿苷二磷酸-N-乙酰胞壁酸五肽(UDP-MurNAc-pentapeptide)；然后对 UDP-MurNAc-pentapeptide 进行进一步的固定与跨膜的 C552P 结合形成脂质 I，再与尿苷二磷酸-N-乙酰氨基葡萄糖（UDP-GlcNAc）结合

形成脂质 II，之后脂质 II 被转运至细胞膜外；最后在膜周质空间中完成肽聚糖的组装形成细胞壁[9]。

G$^+$菌中肽间桥形成后，脂质 II 被转运到膜的外侧，并纳入肽聚糖链。乳酸链球菌素、菌丝霉素可以与脂质 II 结合，从而防止其并入肽聚糖链[9]。不同的是，菌丝霉素并未造成膜损伤和膜电位改变，而乳酸链球菌素疏水部分插入双层界面会引起脂质 II 的离域[9–10]。人类β-防御素 3(hBD3)能干扰细胞壁的生物合成而不造成膜损伤，通过诱导细胞壁的病变引起充满细胞质的突起的形成，抑制蛋白质参与脂质 II 的形成，并抑制其与脂质 II 通过静电相互作用的相互结合，使 UDP-MurNAc-pentapeptide 在细胞质中积累[11]。人类 α-防御素 1（HNP1）也可以与脂质 II 结合从而抑制细胞壁生物合成[12]。

1.1.2　AMP 破坏 G$^+$菌的细胞壁

AMP 也可以通过触发细菌自溶而间接作用于细胞壁，这个过程中细胞释放自溶素，切割肽聚糖，从而破坏细胞。脂磷壁酸（LTA）位于隔膜，能调节自溶酶并能在 AMP 作用时释放自溶酶[3]。硫醚抗生素、多肽抗原（Pep5）、乳酸链球菌素和旧世界猴白细胞的 AMP θ-防御素能造成菌体自溶[3]。总之，AMP 能够抑制细菌生长并杀死细菌，但首先必须穿过细胞壁才能发挥作用。

1 .2　AMP 与 G$^+$菌细胞膜的相互作用

细胞膜是 AMP 的主要靶点。目前提出了多种 AMP 与膜的作用模型。例如，筒板模型：肽积聚在膜的表面上，当达到一个阈值后，肽插入到膜中[4]；环形孔模型：肽和脂排孔形成无序的环形孔模型；此外还有地毯模型、去垢剂模型等。然而，这些模型基础上的脂质囊泡的研究，并不能完全解释 AMP 与细菌膜之间的相互作用。AMP 与细胞膜相互作用引起膜损伤从而形成跨膜电位并造成重要分子的损失[13]。膜损伤扰乱细胞的稳态，导致细胞萎缩或体积增加[14]。由于膜损伤导致细胞孔隙或通道中荧光染料（如碘化丙啶）的形成，所以透射电镜下可以观察到起泡现象（当细胞骨架脱离细胞膜造成膜膨胀形成膜突起）和异常隔

膜的形成。绵羊骨髓抗菌肽（SMAP-29）作用于金黄色葡萄球菌时，起泡现象频繁发生在细胞分裂期。但是，上述研究只能说明肽能引起膜损伤而不能证明膜是 AMP 初始且唯一靶点，也不能说明肽是否穿过膜进入细胞质及其是否影响细菌其他的生理功能，如 DNA 和 RNA 的合成。

AMP LL-37 对枯草芽孢杆菌单细胞膜活性的影响的研究结果表明，低浓度的肽能与膜相互作用引起的膜损伤是可修复；高浓度的肽，当超过阈值后将导致严重的不可逆的膜损伤，导致细胞萎缩或异常的隔膜形成[15]。因此，可以通过致死到亚致死的浓度范围来确定肽的作用模式。在上述研究中，用显微镜观察若丹明染料标记的 LL-37(Rh-LL-37)对枯草芽孢杆的作用模式。Rh-LL-37 作用于靶细胞可分为 3 个阶段。第 1 阶段，Rh-LL-37 与外膜、脂多糖和 O-抗原层快速结合。外膜表面肽浓度超过外膜结合肽的阈值后肽能够穿过外膜，而不造成严重的局部膜损伤。一旦 Rh-LL-37 进入胞质，大肠杆菌立即停止生长，这被称为第 2 个阶段。Rh-LL-37 进入隔膜的周质，与固定的肽聚糖结合后穿过细胞质膜。第 3 阶段是细胞质膜的通透性增加的过程，这个过程在细胞间隔发生。

Rh-LL-37、天蚕素 A 易与间隔细胞结合，此外，天蚕素 A 更易作用于新极点[16]。隔膜、新极点以及新形成的细胞中富含阴离子磷脂（如双磷脂酰甘油）[17]。这种隔膜中富含双磷脂酰甘油的区域使 DNA 复制机制得到补充，是细胞分裂蛋白质的关键[18]。因此，肽与双磷脂酰甘油的结合可以引起蛋白质局部解离，严重影响细胞稳态。

通过荧光显微镜观察 AMP 的作用方式，结果表明达托霉素的亚致死浓度能引起枯草芽孢杆菌膜结构弯曲[19]。细胞分裂蛋白 DivIVA 能识别负膜曲率，并与这些膜结合，引起细胞壁的变形及间隔的形成，造成其结构稳定性降低，导致膜被挤出形成泡，最终可能导致细胞膜和细胞壁的破裂[19]。除此之外，还可能造成膜结定位蛋白的离域从而影响细胞的正常功能[19]。膜结合蛋白的离域是改变膜电位的结果。MP196 能引起的膜结合蛋白的离域，如：乙酰葡萄糖胺移位酶(MurG)参与脂质 II 的生物合成[20]。MP196 与膜的相互作用并未造成膜

损伤或离子的损失，通过从细胞膜分离细胞色素 C 作用于呼吸链，使呼吸链活性降低，从而造成 ATP 及大分子的生物合成减少[20]。因此，膜结合蛋白在 AMP 的抗菌模式中起着重要作用。

1 .3　AMP 与胞内靶点的相互作用

AMP 可以破坏细胞膜也可以不引起膜损伤穿透质膜后在胞内累积，与细胞内富集的阴离子分子（DNA、RNA 或蛋白质）结合，从而影响细胞的正常功能。例如，凝血酶诱导的来自兔子血小板杀菌蛋白（tPMPs），使膜通透性减小，抑制 DNA 和 RNA 合成，从而间接的抑制蛋白质合成。AMP 可以使膜通透性降低，通过与 DNA 双链结合，阻止它解链，抑制 DNA 复制和翻译[21]。合成肽 SP1-1 在天然 α-螺旋型 AMP 的基础上，能够穿过金黄色葡萄球菌细胞膜进入到细胞质与反 σ-因子丝氨酸蛋白激酶相互作用[22]。

1.4　AMP 对 G^+菌孢子活性的影响

AMP 对孢子有抗菌性，但只作用于萌发后的孢子，即当皮层已经退化，2,6-二羧酸吡啶（DPA）被释放，孢子核心与水结合。皮层的退化是由于孢子核的再水化，代谢活性降低使其丧失抵抗外界环境保护孢子的能力[23]。孢子一旦失去 DPA 就会变得非常不稳定而失去抗性。

目前为止，只对由枯草芽孢杆菌产生的枯草菌素和乳酸乳球菌产生的乳酸链球菌素进行了孢子活性研究。乳酸链球菌素和枯草菌素只作用于萌发后孢子内膜，内层膜的破坏能防止代谢反应的发生和芽孢外被的脱落，从而防止副产物的产生[24]。孢子对外界环境非常敏感，一旦外界存在适宜萌发的环境，孢子便开始萌发。由于 AMP 的存在，萌发受体被激活，DPA 被释放，孢子核心水含量升高，孢子失去其休眠特性并失去抗性。研究表明，乳酸链球菌素对炭疽杆菌的芽孢生长的抑制依赖于脂质 II 与营养细胞的结合[24]。

2　G^+菌对 AMP 的耐药性及其作用机制

随着对 AMP 的深入研究发现少数细菌对 AMP 产生耐药性现象，但 G^+菌对 AMP 产生

抗性比较罕见，这里我们用非敏感 G$^+$菌为例解释他们对 AMP 产生的抗性。G$^+$菌对 AMP 的抗性主要通过表型的改变，包括细胞壁的增厚、膜流动性的改变、磷脂成分的改变、表面净电荷的改变、蛋白酶的释放以及将肽和氨基酸降解到环境中降低低渗透压的压力等。

2.1 增厚细胞壁

一些 G$^+$菌通过增厚细胞壁来降低 AMP 的抗菌活性。AMP 作用于金黄色葡萄球菌、粪肠球菌会使其细胞壁增厚[25-26]。增厚的细胞壁外肽聚糖层结构的交联性降低，起着阻止 AMP 通过膜的分子筛的作用[27]。金黄色葡萄球菌细胞壁类肽聚糖层非酰胺化胞壁肽的成分增加使 AMP 与细胞壁的亲和力增加，从而降低 AMP 的抗菌活性[27]。非敏感的金黄色葡萄球菌中细胞壁的增厚并非一直存在，也可能只是暂时的。例如：万古霉素可以引起金黄色葡萄球菌细胞壁的增厚，但当从培养基中除去万古霉素时，细胞壁的厚度降低，在培养基中重新加入万古霉素时细胞壁重新变厚[28]。

2.2 改变膜流动性

G$^+$菌也能通过改变膜流动性对 AMP 做出抗性[29]。达托霉素作用于金黄色葡萄球菌时，细胞膜中类胡萝卜素含量降低从而使膜的流动性降低[30]。达托霉素作用于屎肠球菌时，细胞膜中不饱和脂肪酸（如环丙烷脂肪酸）增加从而使膜的流动性降低[29]。

2.3 改变表面净电荷

一些 G$^+$菌可以通过磷壁酸的 *D*-丙氨酰化改变其表面净电荷，如：格氏链球菌、艰难梭状芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌等[31–32]。磷壁酸的 *D*-丙氨酰化可以降低由 *dlt* 操纵子调控的阴离子电荷。有报道表明，在艰难梭状芽孢杆菌、肺炎链球菌和蜡样芽胞杆菌中 *dlt* 操纵子缺失会引起阳离子 AMP 敏感性增加[32]。

膜的磷脂组合物改变也可以引起膜表面的净电荷的改变。达托霉素作用于屎肠球菌时，赖氨酰基、丙氨酰基和含有磷脂的精氨酰基增加，磷脂酰甘油（PG）浓度减少，导致细胞膜表面电荷降低[29]。细菌素 Mundticin KS 作用于屎肠球菌和达托霉素作用于金黄色葡萄球

菌时获得类似的结果[33]。删除参与膜组件的多种基因也可改变枯草芽孢杆菌的细胞膜成分。研究表明，缺失 *MprF* 的突变体比野生型对乳酸链球菌素更敏感，缺失 *UgtP* 的突变体对细菌素 Sublancin 敏感。敲除 *MprF* 可阻止 lysyl-PG 和 PG 的合成，使膜上双磷脂酰甘油（CL）和 PG 浓度增加。除了降低膜的净负电荷，氨酰化磷脂酰甘油（如 lysyl-PG）还可增强细胞膜的稳定性[34]。*UgtP* 参与糖脂合成，糖脂是 LTA 的前体，缺失 *UgtP* 的突变体导致枯草菌素的敏感性增加。

金黄色葡萄球菌的缺失突变体菌株对防御素和 protegrin-1 敏感。只有 *MprF* 操纵子局部点突变引起具有增益表型的金黄色葡萄球菌菌株中 lysyl-PG 合成增加[25]。具有 *MprF* 增益功能表型的金黄色葡萄球菌对三羟甲基丙烷邻苯二甲酸单酯(tMPPs)和 HNP1 的敏感性降低[26]。*MprF* 存在于各种细菌基因组中，表型改变是金黄色葡萄球菌抵抗 AMP 的一个总体战略[35]。然而，通过减少细菌膜净负电荷产生对 AMP 的抗性是受限的。通过增加 AMP 的浓度，AMP 敏感性降低的细菌仍然可以被杀死。

2.4　蛋白酶介导

一些 G^+菌可以释放能直接降解 AMP 的蛋白酶。例如，绿脓假单胞菌、粪肠球菌、奇异变形杆菌、酿脓链球菌等可以产生能裂解 AMP 的蛋白酶。金黄色葡萄球菌可以产生能降解 LL-37 并使其失去活性的溶金菌素（aureolysin），还可以产生能与 α-防御素高度亲和的葡激酶，发挥对防御素抗性作用。铜绿假单胞菌、粪肠球菌、和化脓性链球菌产生能与 α-防御素结合的硫酸皮肤素，使防御素失去活性。化脓性链球菌还可产生半胱氨酸蛋白酶 SpeB，可以与细胞膜表面结合并降解与细胞膜相互作用的 LL-37。

2.5　枯草芽孢杆菌细胞膜对 AMP 的抗药性

枯草芽孢杆菌通过表型改变产生对 AMP 的抗性主要是由信号转导调控系统调控，可以诱导细胞修复损伤并在胞外被膜改变和反应异常时保护细胞[36]。枯草芽孢杆菌应激反应由外周作用（ECF）σ-因子和双组分系统（TCS）调控[36-37]。这 2 个都是信号系统，包括膜传

感器激酶和反应调节器[36]。调节器在不引起细胞壁应力的条件下保持不活动状态，但一旦检测到壁应力，调节器被激活并诱导靶基因的表达。

在 LL-37 亚致死浓度作用下，枯草芽孢杆菌激活由 ECF σ-因子调节控制的 *SigM* 和 *SigW*[38]。*SigM* 由细胞壁抗生素、酸性 pH、热、乙醇、超氧化物歧化酶和细胞壁应力等激活，参与激活多种基因、细胞壁的生物合成、细胞分裂、细胞形成、DNA 损伤反应和脱毒酶等[39-40]。*SigW* 也是由细胞壁活性抗生素（如万古霉素、protegrin-1）或碱性冲击诱导。*SigW* 调控细胞膜脂肪酸成分，从而改变膜的流动性[37]。Protegrin-1 激活枯草芽孢杆菌的 *SigM* 和 *SigX* 因子[38]。*SigX* 参与调节膜整体净电荷，调控 *dlt ABCDE* 和 *pssA-ybfM-psd*[40]。*dlt* 操纵子控制 *LTA* 和 *PssA/PSD* 的 *D*-丙氨酰化，促进磷脂酰乙醇胺(PE)的合成。除了激活 ECF σ-因子，双组分系统也被激活。*LL*-37 激活 YxdJK TCS 和 LiaRS（YvqCE）TCS 双组分系统[38]。枯草芽孢杆菌双组分系统的激活与肽有关。例如：protegrin-1 能激活 LiaRS（YvqCE）TCS 而不激活 YxdJK TCS 系统[38]。在细胞壁的抗生素反应系统中，LiaRC TCS 和 ECF σ-因子保护细胞膜的完整并防止其破坏[36]。

枯草芽孢杆菌有 3 种 TCS/ABC 转运模式：BceRS-BceAB、YxdJK-yxdLM 和 YvcPQ-yvcRS 系统。参与 BceRS-BceAB 系统的 ABC 转运蛋白从细胞膜去除杆菌肽，研究表明去除的杆菌肽由磷脂双分子层直接转运到细胞外环境中[41]。BceRS-BceAB 系统由细胞壁合成抑制肽（如菌丝霉素、mersacidin 和 ctagardine 等）诱导[42]。YxdJK-yxdLM 系统由 LL-37 激活[38]。当脂质 II 与硫醚抗生素（如乳酸链球菌素、gallidermin）结合时 YvcPQ-yvcRS 系统被激活[42]。与细胞壁合成和杆菌肽抗性有关的 *bcrC*(*ywoA*)基因、细胞壁应力引诱的青霉素结合蛋白（PBPE）以及 *dltB* 操纵子都与 LL-37 抗性有关[38]。枯草芽孢杆菌可以通过减少细胞表面的净负电荷维持膜稳态和除去胞表面的 AMP 对 AMP 产生抗药性。

2.6　金黄色葡萄球菌细胞膜对 AMP 的抗药性

为了了解其他 G^+菌对 AMP 的反应是否类似于枯草芽孢杆菌，对葡萄球菌属的抗药性进

行研究。类似于枯草芽孢杆菌，阳离子肽激活表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌双组分调控系统（Aps 系统）[38]。Aps 系统调节与阳离子 AMP（如防御素、LL-37）抗性的有关基因位点。Aps 系统由 3 个部分组成：ApsS、ApsR 和 ApsX。Aps 系统通过外输泵调控 *dlt*、*mprF*、*vraFG* 和 ABC 转运蛋白，外输泵对药物的外排作用是细菌抗药性机制之一[43-44]。除了将 Aps 系统作为监管体系，ApsS 细胞外的传感环具有高密度的负电荷结合肽，可直接使 AMP 无活性[43]。

尽管与抗生素相比，部分微生物可以对 AMP 产生耐药性，但是由于 AMP 具有作用靶点较多、杀菌较快的作用机制，因此大多数细菌在产生抗药性之前就被 AMP 杀死，仅有一小部分细菌能对 AMP 产生耐药性。但同时为避免细菌对 AMP 产生广泛的耐药性，必须警惕 AMP 的耐药性菌的出现[45]。

3 小 结

目前，在畜牧业中，为了增强动物抵御疾病的能力，通常会在饲料中添加适量的抗生素添加剂，但是这些抗生素添加剂容易在动物体内残留，从而间接在人体内残留，危害人类健康。AMP 具有与抗生素饲料添加剂相同的性能且不会造成体内残留，完全符合畜产品安全生产的需要，极具有作为新一代饲料添加剂的潜质。但真正的把 AMP 应用于畜牧业仍具有许多挑战，如：天然 AMP 含量低且不宜分离纯化；与抗生素相比杀伤能力较弱；潜在的毒性、溶血性以及 AMP 的耐药性等问题都不容忽视。

更好地了解各种 AMP 的抑菌机制将为高效抗菌药物的研发提供帮助。一些 AMP 在预临床研究中具有较好的疗效，副作用较低，而且也有一些 AMP 已成功应用到农业和食品工业中，具有良好的应用前景。AMP 作为最有潜力的抗生素替代药品，在医药卫生、畜牧养殖、食品加工以及农业等领域拥有广阔的应用前景。但同时为避免重蹈抗生素的覆辙，防止细菌对其产生广泛的耐药性，必须警惕 AMP 耐药性菌的出现，对 AMP 应当采取合理的应用方式。

参考文献：

[1] LEWIS K.Platforms for antibiotic discovery[J].Nature Reviews Drug Discovery,2013,12(5):371–387.

[2] FOX J L.Antimicrobial peptides stage a comeback[J].Nature Biotechnology,2013,31(5):379–382.

[3] WILMES M,STOCKEM M,BIERBAUM G,et al.Killing of staphylococci by θ-defensins involves membrane impairment and activation of autolytic enzymes[J].Antibiotics (Basel),2014,3(4):617–631.

[4] NGUYEN L T,HANEY E F,VOGEL H J.The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action[J].Trends in Biotechnology,2011,29(9):464–472.

[5] TEIXEIRA V,FEIO M J,BASTOS M.Role of lipids in the interaction of antimicrobial peptides with membranes[J].Progress in Lipid Research,2012,51(2):149–177.

[6] WIMLEY W C.Describing the mechanism of antimicrobial peptide action with the interfacial activity model[J].ACS Chemical Biology,2010,5(10):905–917.

[7] GRAY A N,EGAN A J F,VAN'T VEER I L,et al.Coordination of peptidoglycan synthesis and outer membrane constriction during *Escherichia coli* cell division[J].eLife Sciences,2015,4:e07118.

[8] NEUHAUS F C,BADDILEY J.A continuum of anionic charge:structures and functions of *D*-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria[J].Microbiology and Molecular Biology Reviews,2003,67(4):686–723.

[9] SCHNEIDER T,KRUSE T,WIMMER R,et al.Plectasin,a fungal defensin,targets the bacterial cell wall precursor lipid Ⅱ[J].Science,2010,328(5982):1168–1172.

[10] HASPER H E,KRAMER N E,SMITH J L,et al.An alternative bactericidal mechanism of

action for lantibiotic peptides that target lipid Ⅱ[J].Science,2006,313(5793):1635–1637.

[11] SASS V,SCHNEIDER T,WILMES M,et al.Human β-defensin 3 inhibits cell wall biosynthesis in staphylococci[J].Infection and Immunity,2010,78(6):2793–2800.

[12] DE LEEUW E,LI C Q,ZENG P Y,et al.Functional interaction of human neutrophil peptide-1 with the cell wall precursor lipid Ⅱ[J].FEBS Letters,2010,584(8):1543–1548.

[13] LEE H,HWANG J S,LEE J,et al.Scolopendin 2,a cationic antimicrobial peptide from centipede,and its membrane-active mechanism[J].Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes,2015,1848(2):634–642.

[14] WANG K R,DANG W,YAN J X,et al.Membrane perturbation action mode and structure-activity relationships of Protonectin,a novel antimicrobial peptide from the venom of the neotropical social wasp *Agelaia pallipes pallipes*[J].Antimicrobial Agents and Chemotherapy,2013,57(10):4632–4639.

[15] BARNS K J,WEISSHAAR J C.Real-time attack of LL-37 on single *Bacillus subtilis* cells[J].Biochimica et Biophysica Acta：Biomembranes,2013,1828(6):1511–1520.

[16] RANGARAJAN N,BAKSHI S,WEISSHAAR J C.Localized permeabilization of *E. coli* membranes by the antimicrobial peptide Cecropin A[J].Biochemistry,2013,52(38):6584–6594.

[17] MILEYKOVSKAYA E,DOWHAN W.Cardiolipin membrane domains in prokaryotes and eukaryotes[J].Biochimica et Biophysica Acta：Biomembranes,2009,1788(10):2084–2091.

[18] LUTKENHAUS J,PICHOFF S,DU S S.Bacterial cytokinesis:from Z ring to divisome [J].Cytoskeleton,2012,69(10):778–790.

[19] POGLIANO J,POGLIANO N,SILVERMAN J A.Daptomycin-mediated reorganization of membrane architecture causes mislocalization of essential cell division proteins[J].Journal of

Bacteriology,2012,194(17):4494–4504.

[20] WENZEL M,CHIRIAC A I,OTTO A,et al.Small cationic antimicrobial peptides delocalize peripheral membrane proteins[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2014,111(14):E1409–E1418.

[21] GHOSH A,KAR R K,JANA J,et al.Indolicidin targets duplex DNA:structural and mechanistic insight through a combination of spectroscopy and microscopy[J].ChemMedChem,2014,9(9):2052–2058.

[22] DANGEL A,ACKERMANN N,ABDEL-HADI O,et al.A *de novo*-designed antimicrobial peptide with activity against multiresistant *Staphylococcus aureus* acting on RsbW kinase[J].The FASEB Journal,2013,27(11):4476–4488.

[23] SETLOW P.Germination of spores of *Bacillus* species:what we know and do not know[J].Journal of Bacteriology,2014,196(7):1297–1305.

[24] GUT I M,BLANKE S R,VAN DER DONK W A.Mechanism of inhibition of *Bacillus anthracis* spore outgrowth by the lantibiotic nisin[J].ACS Chemical Biology,2011,6(7):744–752.

[25] YANG S J,NAST C C,MISHRA N N,et al.Cell wall thickening is not a universal accompaniment of the daptomycin nonsusceptibility phenotype in *Staphylococcus aureus*:evidence for multiple resistance mechanisms[J].Antimicrobial Agents and Chemotherapy,2010,54(8):3079–3085.

[26] BAYER A S,MISHRA N N,SAKOULAS G,et al.Heterogeneity of *mprF* sequences in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates:role in cross-resistance between daptomycin and host defense antimicrobial peptides[J].Antimicrobial Agents and Chemotherapy,2014,58(12):7462–7467.

[27] CUI LZ,MURAKAMI H,KUWAHARA-ARAI K,et al.Contribution of a thickened cell wall and its glutamine nonamidated component to the vancomycin resistance expressed by *Staphylococcus aureus* Mu50[J].Antimicrobial Agents and Chemotherapy,2000,44(9):2276–2285.

[28] CUI L Z,MA X X,SATO K,et al.Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*[J].Journal of Clinical Microbiology,2003,41(1):5–14.

[29] MISHRA N N,BAYER A S,TRAN T T,et al.Daptomycin resistance in enterococci is associated with distinct alterations of cell membrane phospholipid content[J].PLoS One,2012,7(8):e43958.

[30] MISHRA N N,BAYER A S.Correlation of cell membrane lipid profiles with daptomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J].Antimicrobial Agents and Chemotherapy,2013,57(2):1082–1085.

[31] MCBRIDE S M,SONENSHEIN A L.The *dlt* operon confers resistance to cationic antimicrobial peptides in Clostridium *difficile*[J].Microbiology,2011,157(5):1457–1465.

[32] ROSE W E,FALLON M,MORAN J J M,et al.Vancomycin tolerance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*:influence of vancomycin,daptomycin,and telavancin on differential resistance gene expression[J].Antimicrobial Agents and Chemotherapy,2012,56(8):4422–4427.

[33] PELEG A Y,MIYAKIS S,WARD D V,et al.Whole genome characterization of the mechanisms of daptomycin resistance in clinical and laboratory derived isolates of *Staphylococcus aureus*[J].PLoS One,2012,7(1):e28316.

[34] COX E,MICHALAK A,PAGENTINE S,et al.Lysylated phospholipids stabilize models of bacterial lipid bilayers and protect against antimicrobial peptides[J].Biochimica et Biophysica

Acta：Biomembranes,2014,1838(9):2198–2204.

[35] PESCHEL A,SAHL H G.The co-evolution of host cationic antimicrobial peptides and microbial resistance[J].Nature Reviews Microbiology,2006,4(7):529–536.

[36] JORDAN S,HUTCHINGS M I,MASCHER T.Cell envelope stress response in Gram-positive bacteria[J].FEMS Microbiology Reviews,2008,32(1):107–146.

[37] KINGSTON A W,SUBRAMANIAN C,ROCK C O,et al.A σ^{W}-dependent stress response in *Bacillus subtilis* that reduces membrane fluidity[J].Molecular Microbiology,2011,81(1):69–79.

[38] PIETIÄINEN M,GARDEMEISTER M,MECKLIN M,et al.Cationic antimicrobial peptides elicit a complex stress response in *Bacillus subtilis* that involves ECF-type sigma factors and two-component signal transduction systems[J].Microbiology,2005,151(5):1577–1592.

[39] EIAMPHUNGPORN W,HELMANN J D.The *Bacillus subtilis* σ^{M} regulon and its contribution to cell envelope stress responses[J].Molecular Microbiology,2008,67(4):830–848.

[40] CAO M,HELMANN J D.The *Bacillus subtilis* extracytoplasmic-function σ^{X} factor regulates modification of the cell envelope and resistance to cationic antimicrobial peptides[J].Journal of Bacteriology,2004,186(4):1136–1146.

[41] OHKI R,GIYANTO,TATENO K,et al.The BceRS two-component regulatory system induces expression of the bacitracin transporter,BceAB,in *Bacillus subtilis*[J].Molecular Microbiology,2003,49(4):1135–1144.

[42] STAROŃ A,FINKEISON D E,Mascher T.Peptide antibiotic sensing and detoxification modules of *Bacillus subtilis*[J].Antimicrobial Agents and Chemotherapy,2011,55(2):515–525.

[43] LI M,LAI Y P,VILLARUZ A E,et al.Gram-positive three-component antimicrobial

peptide-sensing system[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2007,104(22):9469–9474.

[44] YANG S J,BAYER A S,MISHRA N N,et al.The *Staphylococcus aureus* two-component regulatory system,GraRS,senses and confers resistance to selected cationic antimicrobial peptides [J].Infection and Immunity,2012,80(1):74–81.

[45] GRUENHEID S,LE MOUAL H.Resistance to antimicrobial peptides in Gram-negative bacteria[J].FEMS Microbiology Letters,2012,330(2):81–89.

Interreaction and Its Mechanism between Peptides and Gram-Positive Bacteria[2]

WEI Yuan[1] GONG Guoli[1,2]*

(1. *College of Food and Biological Engineering College, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an* 710021*, China;*2. *Xi'an Microbial Drug Engineering Laboratory, Xi'an* 710021*, China.)*

Abstract: Antimicrobial peptides (AMP) have been used as a new type of antibacterial agent because of their stable physical and chemical properties, wide antibacterial spectrum, high-temperature resistance. Besides, possibilities of resistance that bacteria might develop toward AMP are much lower than other antibiotics. These characteristics make AMP become the ideal substitute for antibiotics, and thus make AMP having a broad application prospect. However, with the in-depth study of AMP, we found that some microbes can still produce resistance to AMP. At present, there is no in-depth study on the mechanism of gram-positive spores's resistance toward AMP. In addition, little is known about the antibacterial mechanism of AMP to gram-positive bacteria. This review summarized researches on the target of AMP, its antibacterial mechanism against gram-positive and the antibiotic resistance of gram-positive strains.

Key words: antimicrobial peptides; gram-positive bacteria; *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; antibacterial mechanism; drug resistance mechanism

*Corresponding author, professor, E-mail: 15029027717@126.com

（责任编辑 武海龙）